

Title	Genetic increase in brain-derived neurotrophic factor levels enhances learning and memory
Author(s)	中城, 有香子
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59002
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	中 城 有 香 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 5 1 3 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 24 年 3 月 22 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Genetic increase in brain-derived neurotrophic factor levels enhances learning and memory (遺伝子操作による脳由来神経栄養因子の産生増加は、学習・記憶能を高める。)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 奥村明之進 (副査) 教 授 吉峰 俊樹 教 授 望月 秀樹

論 文 内 容 の 要 旨

【 目 的 】

脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) は1982年に初めて単離精製された神経成長因子ファミリーの一つである。BDNFは、幼若神経細胞の神経突起の伸長、神経分化促進能を有する他、成熟した神経細胞では、シナプスの可塑性を調節することで学習記憶に関与すること、また、学習記憶の成立に伴いBDNFレベルが上昇することが知られている。本研究では、学習記憶時にBDNFが上昇することより、BDNFレベルの上昇が、学習記憶能力を高める可能性があると考え、BDNF過剰発現トランスジェニックマウスの成体ホモ(+/+)、ヘテロ(+/-)、野生型(-/-)の同腹仔を用いて、脳内BDNFの産生増加が学習記憶機能へ及ぼす影響を観察した。

【 方 法 な ら び に 成 績 】

本研究ではマウスに適するように独自の改変を加えたモリスの水迷路試験(MWM)を用いた。水中に隠された足場からの逃避潜時を測定し、専用のソフトによる解析を行い、遊泳速度と遊泳開始地点より足場まで到着するまでの総遊泳距離を算出した。MWMは5分間のテストを1日に4回施行し、5日間連続して行った。尚、本試験においては、前後の予備テストや適性の判断は行わず、除外動物は設けなかった。また、MWM終了後は目視による到達でないことを確認するための探索テストを行った。すなわち、水中の足場を取り除き、それまでと同様にマウスをプールに放ち、かつて足場があった正確な位置に1分間に何回到達するかを計測した。

さらに、別の動物群を用いて、脳内の皮質、基底核、海馬におけるBDNFレベルをELISA法によって定量した。MWM2日目の試技において、BDNFヘテロ型マウスでは、足場からの逃避潜時が平均43秒であり、野生型の平均111秒、ホモ型の平均130秒と比較して有意に短縮した。また、ホモ型においては野生型と比べて遅延傾向が見られた。尚、各マウスの5日間のMWM試技中の瞬間最高遊泳速度の平均値 Vmax (cm/sec) は、BDNFヘテロ型、ホモ型、野生型で、それぞれ、36.6±2.2 cm/sec、36.3±3.6 cm/sec、36.8±2.8 cm/secであり、どの遺伝子型のマウスにおいても差が認められなかった。これより、足場への到達時間の短縮は遊泳の上達に依るものではないということが確認された。

総遊泳距離解析の結果、BDNFヘテロ型マウスでは2日目と3日目の施行において、それぞれ582±230cm、366±366cmであり、野生型の同距離921±505cm、716±523cmと比較して有意に短縮していた。しかしながら、ホモ型では野生型と比較して、延長する傾向が見られた。すなわち、ヘテロ型においては、有意に短い距離によって目的地まで到達し得たことより、記憶力が有意に向上していたことが確認された。

探索テストの結果、BDNFヘテロ型マウスは足場があった正確な位置への到達回数が平均5.7回であり、野生型の平均3.2回に比して、有意に上回った。一方、ホモ型と野生型との間に有意な差は認められなかった。

皮質、基底核、海馬のBDNFレベル測定の結果、ヘテロ型マウスにおけるBDNF量は、野生型に比して、それぞれ238%、158%、171%であり、それぞれ有意に増加していた。一方、BDNFホモ型においては、有意な増加が認められなかった。

〔 総 括 〕

脳内におけるBDNFレベルの適度な上昇は、空間学習と記憶機能を増強させることが明らかとなった。

一方、ホモ型の遺伝子操作によって観察されることが予想された、より強いBDNF量の増加は、本研究で用いた成長発達終了後のマウス脳内では、観察されなかった。適度な量のBDNF投与は神経突起の伸展やシナプス形成を促進することが知られているが、過剰量の投与が、神経細胞のアポトーシスを促進し、あるいは、神経突起の伸展をかえって抑制させることが報告されており、また、BDNFのホモ型とヘテロ型が混在した群では、自然発生でんかん発作を有するマウスが認められたとの報告もあり、BDNFの過度の発現増強操作が成長発達過程において何らかの神経傷害を生じさせた可能性は否定できない。実際、ある種の電氣的刺激を用いた研究では、脳内BDNFを高めることが可能であったが、過度に高めたマウスでは、その数週間後、正常な水泳ができなくなり、また、脳内BDNFが正常より低下することを観察している。本研究で観察されたごとく、BDNFをより強く発現させると考えられるホモ型操作が、なぜ、脳内BDNFを正常レベルより高めることなく、また、学習記憶能をも高めなかったかに関しては、さらなる検討が必要である。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文では記憶学習に関与する脳由来神経栄養因子（BDNF）トランスジェニックマウスに対して、脳内BDNFレベルのELISA法による定量的測定を行い、独自の改変を加えたモリスの水迷路試験を用いて、BDNFの産生増加が、学習記憶機能へいかなる影響を及ぼすかを調査している。

ヘテロ型において、脳内BDNFレベルは野生型に比べて有意に上昇していた。水迷路試験において、ヘテロ型は有意に短い逃避潜時と泳動距離を示し、その後に行った探索テストでは、ゴールのあった位置を通過する回数が野生型と比較して有意に頻回であった。

本論文の結果からBDNFトランスジェニックヘテロ型マウスにおいて脳内BDNFの分泌増加によって、記憶力が正常よりも高まることが明らかとなり、またBDNFは分泌性タンパク質であるので、環境や体外からの刺激を工夫することによってその分泌量を制御し、学習記憶力を向上できる可能性が見いだされた。よって博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。